

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭63-295515

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>

A 61 K 37/54

識別記号

A C B

庁内整理番号

8615-4C

⑭ 公開 昭和63年(1988)12月1日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 腸溶性抗血液凝固・血栓溶解製剤

⑯ 特 願 昭62-129551

⑰ 出 願 昭62(1987)5月26日

⑱ 発 明 者 岡 崎 清 高 栃木県宇都宮市東町1-3 皆藤ハイツ1の703

⑲ 発 明 者 原 健 次 栃木県宇都宮市氷室町1022-53

⑳ 出 願 人 花 王 株 式 会 社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号

㉑ 代 理 人 弁理士 有賀 三幸 外2名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

腸溶性抗血液凝固・血栓溶解製剤

## 2. 特許請求の範囲

1. プラズミノーゲンアクチベーター活性を有するプロテアーゼを有効成分とする腸溶性抗血液凝固・血栓溶解製剤。

## 3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は経口によつて投与できる腸溶性抗血液凝固・血栓溶解製剤に関する。

〔従来の技術〕

血栓は、末梢動静脈血栓症、肺塞栓症、心筋梗塞症、冠動脈閉塞症、脳血管閉塞症、網膜動静脈血栓症をはじめとする種々の疾患の

原因因子として大きな問題となつている。現在の死亡率は癌、脳卒中、心疾患の順であるが、原因別にみると血栓が第1位である。

現在、血栓症の治療には、主にウロキナーゼを用いる線溶療法が行われている。そして、ウロキナーゼは、凍結乾燥したものを用時生理食塩水又はブドウ糖注射液等に溶解し、静脈注射又は点滴注射する方法によつて投与されている。

しかしながら、ウロキナーゼによる線溶療法は、①注射によるため厳格な医師の管理下に行わなければならないと共に患者に苦痛を与える、②パイロジェンによる副作用の発現、③大量投与により生ずるプラズミノーゲンの枯渇あるいはアンテプラスミンの増加による

一過性の血液凝固亢進、抗体の出現、④大量の遊離型プラスミノゲンが活性化されることによる出血等の種々の問題点があつた。

〔発明が解決しようとする問題点〕

従つて、注射以外の簡単な方法で投与でき、しかも上記のような副作用のない血栓症治療剤が所望されていた。

〔問題点を解決するための手段〕

斯かる実状において、本発明者は鋭意研究を行つた結果、プラスミノゲンアクチベーター活性を有するプロテアーゼが経口投与において優れた抗血液凝固及び血栓溶解作用を奏することを見出し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、プラスミノゲンアクチベーター活性を有するプロテアーゼを有

経口投与で25g/kg以上であり、種々の腸溶性経口投与製剤、例えば錠剤、顆粒剤、カプセル剤等の剤形で投与することができる。この中でもアクリル酸エチル・メタアクリル酸共重合物、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセチルサクシネート(HPMCAS)等でコーティングした腸溶性カプセル製剤として投与するのが好ましい。投与量は、疾患の程度によつても異なるが、成人において1日当り150,000~200,000ウロキナーゼユニット(100,000~140,000CTAユニット)を1回又は数回に分けて経口投与するのが好ましい。

〔作用〕

本発明のプラスミノゲンアクチベーター

効成分とする腸溶性抗血液凝固・血栓溶解剤を提供するものである。

本発明において、プラスミノゲンアクチベーター活性とはレービログルタミル・グリル・レーアルギニル・p-ニトロアニリド塩酸塩に対する加水分解能力を指称するものであり、プラスミノゲンアクチベーター活性を有するプロテアーゼとしては、ウロキナーゼタイプ・プラスミノゲンアクチベーター(プロウロキナーゼ)、組織プラスミノゲンアクチベーター、トリプシン、カリクレイン、トロンビン、プロメライン等が挙げられる。

斯かるプロテアーゼの毒性(LD<sub>50</sub>)は、ラットの腹腔内投与で5g/kg以上、ラットの

活性を有するプロテアーゼの経口投与における血液凝固時間の延長及び血栓溶解作用のメカニズムは未だ解明されていないが、当該プロテアーゼが腸管から吸収される量は極めて微量であることから、当該プロテアーゼが生体を刺激してホルモン様の作用を示し、血液凝固の抑制及び血栓溶解を行うものと推測される。

〔発明の効果〕

本発明のプラスミノゲンアクチベーター活性を有するプロテアーゼは経口投与において優れた抗血液凝固及び血栓溶解作用を奏するので投与が容易であり、しかも低毒性で副作用も少ないという種々の利点を有する。

〔実施例〕

次に実施例を挙げて説明する。

尚実施例においてプラスミノゲンアクトペーター活性は次の方法によつて測定した。

ウロキナーゼの人工基質であるL-ピログルタミン-L-グリシン-L-アルギニン-p-ニトロアニリド塩酸塩(S-2444, 第一化学薬品社製)(2ミリモル/ml)50 $\mu$ lを0.1Mリン酸緩衝液(pH7.2)950 $\mu$ lにに加え、次いでプロテアーゼ(2 $\mu$ g/ml)10 $\mu$ l及びウロキナーゼ(コントロール)10 $\mu$ lを加えて、37℃で2時間インキュベートする。これに12%トリクロル酢酸(生化学用、和光純薬工業社製TCA)を加えて反応を停止させ、405nmの吸光度を測定する。活性単位はOD<sub>405</sub>=0.05が0.3ナノモル/mlに相当し、こ

麻酔下、1日当たり1カプセルずつカニユーレーションによつて投与した。投与1日後に、上記と同様にして採血し、スロンゴエラストグラムから各パラメーターを求め、プロナーゼ投与前後の各パラメーターを比較した。その結果は第1図のとおりであり、本発明の効果が確認された。

#### 実施例2

実施例1と同様にしてプロナーゼ投与0～3日後の家兎心臓より、3.8%クエン酸ナトリウム2mlを入れたプラスチック製注射器に血液1.8mlを採血し、静かに混和後、室温にて、800回転、15分で多血小板血漿を採取し、更に1500回転、30分にて血小板を分離し、残血小板を30万/ $\mu$ lになるように

れが40CTAユニット/mlのウロキナーゼに相当するので、これに基づいて比活性を求めた。

#### 実施例1

体重25～3kgの雌性家兎(n=5)を使用し、その心臓より血液2mlを3回採血し、その400 $\mu$ lずつを4つに分けてクロットレーサー(エルマ社製)のキュベットに入れ、観測した。得られたスロンゴエラストグラムから、Ma:最大振幅、R:凝固時間、K:反応時間、Me:最大弾性度を求め、4回の平均値で示した。

プロナーゼ(科研製薬社製)を177,000U/カプセルになるように充填した腸溶性カプセル剤(カプセル剤皮はHPMCASを用いて信越化学工業で作成したもの)を、上記家兎に無

Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup> free Tyrode 液に浮遊させた。この浮遊液500 $\mu$ lを血小板凝集計(Sienco社製; DP-247E)のキュベット内に入れ、37℃にてリストセチン(Lundbeck社製)50 $\mu$ lを加え、5分後にその反応液20 $\mu$ lをインドメタシン20 $\mu$ Mを含む4℃に保つたRIAバッファー(RIAとしては小野薬品製抗血清を用いた)800 $\mu$ lに加え、10 $\mu$ l個血小板当たり産生されるトロンボキサンB<sub>2</sub>(血小板活性化の指標の1つである)量をng単位で測定した。その結果は第2図のとおりであり、プロナーゼ投与によりトロンボキサンB<sub>2</sub>は減少した。

#### 4. 図面の簡単な説明

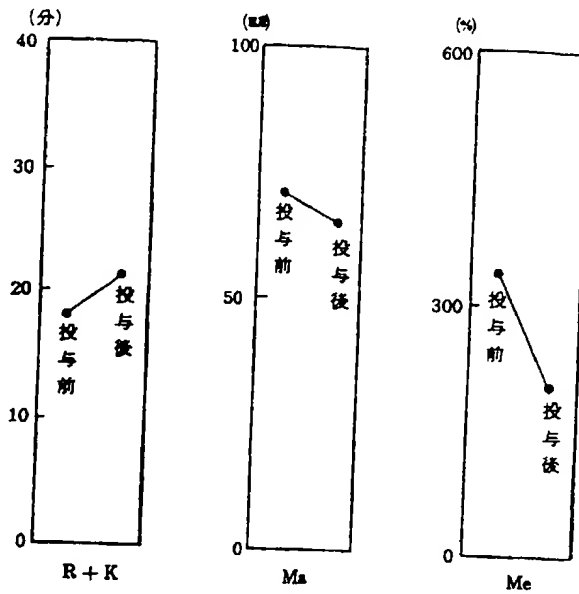
第1図はプロナーゼ投与の前後におけるス

ロンボエラストグラムの各パラメーターの変化を示す図であり、第2図はプロナーゼ投与におけるトロンボキサン  $B_2$  の変化を示す図である。

第 1 図

以 上

出 願 人 花 王 株 式 会 社  
代 理 人 弁 理 士 有 賀 三 幸  
弁 理 士 高 野 登 志 雄  
弁 理 士 小 野 信 夫



第 2 図

